UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA BASILICATA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE

Insegnamento: Biochimica Applicata

Corso di studio: Biotecnologie
Anno di Corso: 2014-2015
Periododidattico: I semestre
Tipologia: B
Totale Crediti: 6
Tipo Esame: orale
Valutazione: voto
Lingua di insegnamento: Italiano

inizio corso 07/10/2014 fine corso 31/01/2015

APPELLI DI ESAME

Mese	Anno	Appello previsto
Febbraio	2015	24
Marzo	2015	
Aprile	2015	14
Maggio	2015	
Giugno	2015	23
Luglio	2015	14
Settembre	2015	
Ottobre	2015	20
Novembre	2015	
Dicembre	2015	15
Gennaio	2016	

COMMISSIONE ESAME:
Presidente: Bracalello Angelo
Componente: Ostuni Angela
Componente: Armentano Francesca
Componente: Castiglione Morelli M. Antonietta

ORARIO RICEVIMENTO STUDENTI

	dalle ore	alle ore	presso
LUNEDI'			
MARTEDI'	15,00	17,00	Studio docente
MERCOLEDI'			
GIOVEDI'	15,00	17,00	Studio docente
VENERDI'			

Eventuali prerequisiti: Chimica Organica, Biochimica

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA BASILICATA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE

Obiettivi Formativi
Fornire allo studente le competenze teoriche e pratiche delle tecniche di biochimica e biologia molecolare oggetto del corso.

Programma del Corso

Tecniche elettroforetiche: principi generali, materiali di supporto. Gel di poliacrilammide e agarosio. Elettroforesi delle proteine: SDS-page. Elettroforesi in condizioni native. Elettroforesi in gradiente. Elettroforesi bidimensionale. Isoelettrofocalizzazione. Elettroforesi degli acidi nucleici: elettroforesi su gel di agarosio, elettroforesi su gel di poliacrilammide. Western, Northen e Southern blotting.PFGE

Tecniche radioisotopiche: struttura dell'atomo. Stabilità atomica e radiazione. Tipi di decadimento radioattivo. Unità di misura della radioattività. Principali isotopi usati in campo biotecnologico. Rivelazione e misura della radioattività. Metodi basati sulla ionizzazione dei gas: il contatore Geiger-Muller. Metodi basati sull'eccitazione: i contatori a scintillazione. Metodi basati sull'esposizione di emulsioni fotografiche: autoradiografia, dosimetri. Fluorescenza e fluorocromi: caratteristiche fisico chimiche e spettrali.

Tecniche di centrifugazione: principi di base della sedimentazione, il coefficiente di sedimentazione. Tipi di centrifughe. Ultracentrifughe preparative e analitiche. Tipi di rotori. Clearing Factor. Centrifugazione differenziale. Centrifugazione in gradiente di densità. Centrifugazione zonale ed isopicnica

Tecniche cromatografiche : principi generali. Cromatografia a bassa pressione su colonna. Cromatografia liquida ad alta risoluzione(HPLC,FPLC).Cromatografia di ripartizione: cromatografia liquida in fase normale e fase inversa. Cromatografia ad esclusione molecolare. Cromatografia a scambio ionico.Cromatografia di affinità.

Tecniche per la determinazione della concentrazione mediante dosaggio spettrofotometrico
Legge di lambert-Beer e sue applicazioni quantitative, concetto di curva di taratura. Curva di dissociazione del DNA ed effetto ipercromico Metodi per la determinazione della concentrazione degli acidi nucleici , Metodi diretti ed indiretti per il dosaggio della concentrazione delle proteine: metodo del Biureto, metodo di Lowry Metodo del BCA, metodo di Bradford.

Analisi degli acidi nucleici
Metodi per la determinazione della concentrazione degli acidi nucleici, Northen e Southern blotting. Sistemi di restrizione e modificazione. Enzimi di classe I,II,III. Modificazione delle estremità coesive: Filling- in e trimming. La reazione a catena della polimerasi: Taq, disegno dei primers, concentrazioni ottimali di stampo, primers, dNTP, cationi bivalenti. Numero di cicli. Booster e nested PCR. RT PCR Real Time PCR

Tecniche di clonaggio principi generali, clonaggio sticky, blunt e TA, Vettori di clonaggio : caratteristiche generali, plasmidi, fagi, cosmidi, YAC e BAC. Screening blue /white. Vettori di espressione caratteristiche generali, ottimizzazione della traduzione. Proteine native e di fusione.

Metodi didattici: Lezioni frontali, laboratorio, esercitazioni

Modalità di verifica dell'apprendimento: solo esame finale

Testi di Riferimento

K. Wilson , J. WalKer **Biochimica e Biologia Molecolare, principi e tecniche** Ed. R. Cortina
Susan J. Karcher **Laboratorio di Biologia Molecolare** Ed. Zanichelli